

УДК 579.2

## ПОДБОР ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПИТАТЕЛЬНОГО КОМПОНЕНТА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИСТЕРИЙ

*Родионова И.В., студентка 4 курса ФВМиБ,  
e-mail: rodionovnaarina07@yandex.ru  
Научный руководитель - Сульдина Е.В., ассистент  
ФГБОУ ВО Ульяновская ГАУ*

**Ключевые слова:** *листерии, культивирование, питательная основа, питательная среда.*

*Работа посвящена поиску дополнительных факторов и стимуляторов роста для листерий, которые способствовали бы максимальному накоплению микробных клеток, наиболее сильно сказывались на интенсивности роста бактерий и выход биомасс.*

При разработке питательной среды для листерий имеет значение не только качественный подбор необходимых для листерий ингредиентов, но и количественная оценка влияния отобранных компонентов на выход изучаемой культуры. При этом особое внимание необходимо уделять тем компонентам среды, при которых наиболее сильно сказывается на интенсивности роста бактерий и выход биомасс [1-11].

Задачей исследования было поиск дополнительных факторов и стимуляторов роста листерий, который способствовали бы максимальному накоплению микробных клеток. В связи с этим возникла необходимость поиска веществ, оказывающих стимулирующий эффект и ростовых свойств среды. С этой целью были испытаны ряд дополнительных питательных компонентов: Proteose Peptone (Протеозопептон), Beef Extract Powder (Мясной экстракт), Meat Peptone Type P (Мясной пептон, Тип P).

Нами были приготовлены образцы сред из бактериологического агара и питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки, который был изучен в предыдущем исследовании и при котором был более интенсивный рост клеток листерий и с добавлениями дополнительных питательных компонентов. Первый образец среды: бактериологический агар – 3 гр.; ГРМ- бульон – 3 гр.; Proteose Peptone (Протеозопептон) – 0,7 гр. Второй образец среды: бактериологический агар – 3 гр.; ГРМ- бульон – 3 гр.; Beef Extract Powder (Мясной экстракт) – 0,7 гр.

**Таблица 1 - Результаты подбора дополнительного питательного компонента.**

Наименование	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10
№1- Proteose Peptone	н	н	н	н	н	н	1,3	1	0,5	-
№2- Beef Extract Powder	н	н	н	н	н	24,3	23,3	13	-	-
№3- Meat Peptone Tipe P	н	н	н	н	н	н	н	36	3	-

«-» - отсутствие колоний

«н» - невозможно произвести подсчет колоний

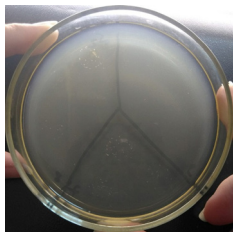
Третий образец среды: бактериологический агар – 3 гр.; ГРМ- бульон – 3 гр.; Meat Peptone Tipe P (Мясной пептон, Тип P) – 0,7 гр.

Далее, произведены посевы «газоном» 1 мл. 24-х часовой культуры *Listeria monocytogenes* 56 на чашки Петри, с разными средами чашки инкубировались при 37°C, 18-24 часа. Обильный рост присутствовал во всех трех чашках, затем произвели смывы бактериальной массы с чашек Петри, произвели десятикратные разведения на чашки. Затем из каждого разведения вливали по 20 мкл содержимого в 3-х повторах на МПА, далее инкубировали при 37°C, продолжительностью 18-24 часа. Результаты представлены в таблице 1.

Подсчет количества колоний в разведениях осуществлялись с помощью среднего арифметического значения. Сумму количества колоний с 3-х капель (по 20 мкл) делим на количество капель.

Таким образом, в среде с добавлением сухого питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки и Proteose Peptone (Протеозопептон), получилось  $2,5 \times 10^{10}$  клеток в 1 мл.; в среде, с добавлением сухого питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки и Beef Extract Powder (Мясной экстракт), получилось  $6,5 \times 10^{10}$  клеток в 1 мл.; в среде с добавлением сухого питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки и Meat Peptone Tipe P (Мясной пептон, Тип P), получилось  $1,5 \times 10^{11}$  клеток в 1 мл.

Нами изучены три дополнительного компонента Proteose Peptone (Протеозопептон), Beef Extract Powder (Мясной экстракт), Meat Peptone Tipe P (Мясной пептон, Тип P), в качестве дополнительного питательного компонента при разработке сред для выделения, накопления и идентификации листерий. Как видно из таблицы 1 и подсчета среднего



**Рисунок 1 - *Listeria monocytogenes* 56 на среде с сухим питательным бульоном (ГРМ) и Beef Extract Powder,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  разведение**



**Рисунок 2 - *Listeria monocytogenes* 56 на среде с сухим питательным бульоном (ГРМ) и Meat Peptone Type P,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  разведение**

арифметического значения наиболее интенсивный рост клеток и максимальное накопление листерий наблюдался в образце №3, с добавлением сухого питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки и с добавлением дополнительного компонента Meat Peptone Type P (Мясной пептон, Тип P).

#### *Библиографический список*

1. Сульдина Е.В. Основные биологические свойства листериозных бактериофагов / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев // Материалы VI Международной научно-практической конференции Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Ульяновск. - 2015. - С. 125-127.
2. Сульдина Е.В. Выделение листериозных бактериофагов и изучение их основных биологических свойств / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Б.И. Шморгун, Д.А. Васильев // Аграрный научный журнал. Саратов. - 2015. № 3. С. 37-41.
3. Сульдина Е.В. Фаготипирование листерий / Е.В.Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов Всероссийский симпозиум с международным участием. Москва - 2014. с. 223.
4. Ковалева Е.Н. Вопросы биоконтроля пищевого листериоза / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, И.Г. Швиденко, Б.И. Шморгун // Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. Москва. - 2015. с. 157.
5. Сульдина Е.В. Количественное определение патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы

- Международной научно-практической конференции «Инновации в пищевой технологии, биотехнологии и химии». Саратов. – 2017. - С. 202-204.
6. Сульдина Е.В. Разработка параметров количественного определения патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания методом Real-Time PCR / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017. Москва. - 2017. - С. 412-413.
  7. Сульдина Е.В. Оптимизация эффективности мультиплексной ПЦР-тест-системы для детекции *L. monocytogenes* и *L.ivanovii* / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017. Москва. - 2017. - С. 425-426.
  8. Гранкина А.С. Идентификация штаммов листерий коллекции 1960-1970 гг. методом ПЦР/ А.С. Гранкина, Е.В. Сульдина // Материалы Международной научной конференции Молодежь и наука XXI века. – Ульяновск. - 2017. - С. 66-71.
  9. Сульдина Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica* / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 3 (39). - С. 50-55.
  10. Сульдина Е.В. Создание тест-системы на основе бактериофагов для детекции возбудителя пищевого листериоза и мониторинга листериозной инфекции // Молодежный инновационный форум Сборник аннотаций проектов. Ульяновск. - 2016. - С. 353-355.
  11. Сульдина Е.В. Листериозные бактериофаги – как средство индикации и идентификации *L. monocytogenes*. /Сульдина Е.В., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. и др. // Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности. - 2016. с. 85.